

ĐÁNH GIÁ ĐỘC TÍNH CẤP VÀ ẢNH HƯỞNG CỦA VIÊN HOÀN SÂM NHUNG TÁN DỤC ĐƠN VỚI MỘT SỐ CHỈ SỐ HUYẾT HỌC TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Nguyễn Văn Dũng¹, Nguyễn Minh Sơn², Nguyễn Văn Ánh¹,
Nguyễn Công Lý¹, Trần Thị Minh Nguyệt¹, Nguyễn Văn Cường³

¹ Bệnh Viện Y học cổ truyền thành phố Đà Nẵng,

² Sở Y tế thành phố Đà Nẵng

³ Viện Y học cổ truyền Quân đội

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá độc tính cấp và ảnh hưởng của viên hoàn sâm nhung tán dục đơn với một số chỉ số huyết học trên động vật thực nghiệm tại Bệnh viện Y học cổ truyền thành phố Đà Nẵng. **Phương pháp:** Nghiên cứu trực tiếp trên động vật thí nghiệm về tính an toàn của thuốc. **Kết quả:** Không xác định được liều gây chết 50% số động vật thí nghiệm (LD50) của thuốc. Thuốc không thể hiện độc tính cấp và ảnh hưởng với một số chỉ số huyết học trên động vật thực nghiệm. **Kết luận:** Viên hoàn cứng sâm nhung tán dục đơn không gây độc tính cấp và ảnh hưởng với một số chỉ số huyết học trên động vật thực nghiệm.

Từ khóa: Viên hoàn Sâm nhung tán dục đơn.

EVALUATION OF ACUTE TOXICITY AND EFFECTS OF SAM NHUNG TAN DUC DON PILLS ON SOME HEMATOLOGICAL INDICES ON LABORATORY ANIMALS

Abstract

Objectives: Evaluation of acute toxicity and effects of sam nhung tan duc don pills on some hematological indices on laboratory animals at Da Nang Traditional Medicine Hospital. **Methods:** Direct research on laboratory animals on drug safety **Results:** The dose that causes death in 50% of the laboratory animals (LD50) of the drug could not be determined. The test drug sample of Sam nhung tan duc don pills did not cause acute toxicity and effects of some hematological indices on laboratory animals. **Conclusion:** Sam nhung tan duc don pills do not induce acute toxicity and effects of some hematological indices on laboratory animals.

Key words: Sam nhung tan duc don pill. acute toxicity, hematological indices

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Suy giảm tinh trùng (SGTT) là một trong những nguyên nhân trực tiếp gây vô sinh nam, được chẩn đoán qua xét nghiệm tinh dịch

đồ [1]. Số lượng và chất lượng tinh trùng người trên thế giới đang có xu hướng ngày càng giảm [2].

Ngày nay có rất nhiều yếu tố ảnh hưởng tới sức khỏe nói chung

* Ngày nhận bài: 09/08/2024

* Ngày phản biện: 14/08/2024

* Ngày phê duyệt đăng bài: 24/08/2024

và chức năng sinh sản ở nam giới nói riêng như: ô nhiễm môi trường, bệnh nghề nghiệp, stress, hút thuốc, uống bia rượu...[3],[4] Những yếu tố đó tác động trực tiếp hoặc gián tiếp lên quá trình sinh sản và trưởng thành của tinh trùng khiến cơ chế bệnh sinh của suy giảm tinh trùng ngày càng phức tạp [5],[6]. Y học hiện đại (YHHĐ) đã có nhiều thành tựu trong điều trị suy giảm tinh trùng nhưng kết quả không ổn định và còn có những tác dụng không mong muốn. Vì vậy việc sử dụng các phương thuốc Y học cổ truyền (YHCT) trong điều trị suy giảm tinh trùng đã và đang được nhiều tác giả quan tâm.

Suy giảm tinh trùng theo YHCT được xếp vào chứng “vô tử”[7], “cần tự”, một số tác giả Trung quốc dùng thuật ngữ “thiếu tinh”, “nhược tinh”[8]. Tại Việt Nam đã có một số nghiên cứu đánh giá hiệu quả của bài thuốc YHCT trong điều trị suy giảm tinh trùng nhưng chưa nhiều, việc đi sâu nghiên cứu lĩnh vực này là cần thiết.

Năm 2015, tại Bệnh viện Y học cổ truyền thành phố Đà Nẵng, Nguyễn Văn Dũng, Trần Quang Minh, Khúc Thị Song Hương đã đánh giá tác dụng của bài thuốc Tán dục đơn trên 30 bệnh nhân suy giảm số lượng và chất lượng tinh trùng thể thận dương hư [9].

Cho đến nay chưa có công bố

nào về đánh giá độc tính cấp và ảnh hưởng chỉ số huyết học của viên hoàn sâm nhung tán dục đơn. Bài báo này nghiên cứu về đánh giá độc tính cấp và ảnh hưởng của viên hoàn sâm nhung tán dục đơn với một số chỉ số huyết học trên động vật thực nghiệm.

II. CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu nghiên cứu

Thuốc nghiên cứu: viên hoàn cứng Sâm nhung tán dục đơn hàm lượng 0,3g; đóng lọ 90 viên. Sản xuất tại Khoa Dược – Bệnh viện YHCT Thành phố Đà Nẵng, bào chế theo tiêu chuẩn DDVN IV.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

- **Nghiên cứu độc tính cấp:** Chuột nhắt trắng chủng Swiss, cả 2 giống, khỏe mạnh, trọng lượng 20 ± 2 gam, được nuôi dưỡng theo quy trình chuẩn của WHO, do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp.

- **Nghiên cứu ảnh hưởng với một số chỉ số huyết học:** Chuột cống chủng Wistar, cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 180 ± 20 gam, do Ban chăn nuôi – Học viện Quân y cung cấp. Chuột được nuôi tại khoa Nghiên cứu thực nghiệm – Bệnh viện Y học cổ truyền Quân đội 3 - 5 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu bằng thức ăn chuẩn dành riêng cho chuột, uống nước tự do.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Thử độc tính cấp và xác định liều thấp nhất gây chết 50% (LD50) bằng phương pháp Litchfield – Wilcoxon theo hướng dẫn của WHO. Chuột nhắt trắng được chia thành từng lô, mỗi lô 10 con, nhịn ăn 12 giờ trước khi uống thuốc, được uống nước đầy đủ:

+ Lấy 200 viên hoàn SNTDD (tương ứng 60g thuốc) nghiền mịn, pha với nước cất được 90ml (là đậm độ đặc nhất có thể cho chuột uống bằng kim đầu tù chuyên biệt).

+ Cho từng lô chuột uống SNTDD với liều tăng dần từ liều cao nhất không gây chết chuột nào đến liều thấp nhất gây chết toàn bộ chuột thí nghiệm, thể tích cho uống hằng định là 0,25 ml/10g, 3 lần trong 24 giờ, mỗi lần cách nhau 2 giờ.

+ Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động...) và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc. Tất cả chuột chết (nếu có) được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD50 của thuốc thử. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột (ăn uống, hoạt động thần kinh, đi lại, leo trèo, bài tiết ...) đến hết ngày thứ 7 sau khi uống thuốc.

- Nghiên cứu ảnh hưởng với một số chỉ số huyết học: Đánh giá trên chuột cống chủng Wistar theo đường uống theo hướng dẫn của WHO đối với thuốc YHCT. Chuột cống được chia ngẫu nhiên làm 3 lô, mỗi lô 10 con:

+ Lô chứng: uống nước cất liều 1ml/100g/ngày

+ Lô trị 1: Uống thuốc thử liều 0,504g/kg/ngày (liều có tác dụng tương đương trên người, tính theo hệ số 7)

+ Lô trị 2: Uống thuốc thử liều 1,512g/kg/ngày (gấp 3 lần lô trị 1)

Chuột được uống nước cất hoặc thuốc thử mỗi ngày một lần vào buổi sáng, trong 12 tuần liên tục.

+ Các chỉ tiêu theo dõi trước và trong quá trình nghiên cứu: Chức năng tạo máu: Số lượng hồng cầu, thể tích trung bình hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu, số lượng tiểu cầu.

Các thông số theo dõi được kiểm tra vào trước lúc uống, sau 6 tuần và sau 12 tuần uống nước cất hoặc thuốc thử.

2.3. Xử lý số liệu

Các số liệu nghiên cứu được xử lý trên phần mềm SPSS 20.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Độc tính cấp

Bảng 1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của viên hoàn SNTĐĐ trên chuột

Lô chuột	n	Liều dùng (g/kg chuột)	Tỷ lệ chuột chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
1	10	5,0	0	Không
2	10	10,0	0	Không
3	10	15,0	0	Không
4	10	20,0	0	Không
5	10	25,0	0	Không
6	10	30,0	0	Không
7	10	35,0	0	Không
8	10	40,0	0	Không
9	10	45,0	0	Không
10	10	50,0	0	Không

Nhận xét: Chuột nhắt trắng được uống thuốc SNTĐĐ từ liều thấp nhất 5,0g/kg thể trọng chuột đến liều cao nhất là 50,0g/kg thể trọng chuột, nhưng không có chuột nào chết, không xuất hiện triệu

chứng bất thường, trong suốt 72 giờ sau uống và 7 ngày theo dõi tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng với một số chỉ số huyết học

Bảng 2. Ảnh hưởng của viên hoàn SNTĐĐ lên số lượng các tế bào máu ngoại vi ở chuột

Chỉ số	Thời gian	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2
Hồng cầu (G/L)	Trước uống	6,67 ± 0,58	7,04 ± 0,40 ^Δ	6,87 ± 0,79 ^Δ
	Sau uống 6 tuần	7,18 ± 0,82 [*]	6,98 ± 0,71 ^{*Δ}	7,10 ± 1,20 ^{*Δ}
	Sau uống 12 tuần	7,10 ± 0,65 [*]	6,90 ± 0,82 ^{*Δ}	6,86 ± 1,34 ^{*Δ}
Bạch cầu (T/L)	Trước uống	10,56 ± 2,12	9,00 ± 1,30 ^Δ	9,40±1,55 ^Δ
	Sau uống 6 tuần	10,51 ± 2,82 [*]	9,17 ± 1,83 ^{*Δ}	9,25±1,30 ^{*Δ}
	Sau uống 12 tuần	10,33 ± 1,26 [*]	10,13 ± 2,82 ^{*Δ}	10,23±2,36 ^{*Δ}
Tiểu cầu (T/L)	Trước uống	337,30±35,48	304,90±56,29 ^Δ	319,90±50,73 ^Δ
	Sau uống 6 tuần	345,40±61,16 [*]	315,50±46,37 ^{*Δ}	348,20±60,96 ^{*Δ}
	Sau uống 12 tuần	352,50±56,85 [*]	335,90±57,17 ^{*Δ}	347,00±77,22 ^{*Δ}

^{*}: $p > 0,05$ (So sánh với thời điểm trước uống thuốc/nước cất)

^Δ: $p > 0,05$ (So sánh với lô chứng)

Bảng 3. Ảnh hưởng của viên hoàn SNTĐĐ lên một số chỉ số huyết học chuột

Chỉ số	Thời gian	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2
Hemoglobin (g/dl)	Trước uống	11,77 ±0,96	12,41±0,94 ^Δ	11,72±0,80 ^Δ
	Sau uống 6 tuần	12,48±0,73*	12,23±0,94* ^Δ	12,15±1,13* ^Δ
	Sau uống 12 tuần	12,25±0,97*	11,89±1,10* ^Δ	11,42±1,06* ^Δ
Hematocrit (%)	Trước uống	34,02±1,98	34,99±3,29 ^Δ	32,83±2,10 ^Δ
	Sau uống 6 tuần	36,57±3,73*	34,25±2,48* ^Δ	34,93±4,10* ^Δ
	Sau uống 12 tuần	35,63±2,68*	34,03±1,76* ^Δ	34,18±1,66* ^Δ
MCV (fl)	Trước uống	49,05±1,62	48,23±1,79 ^Δ	47,23±3,41 ^Δ
	Sau uống 6 tuần	50,19±1,03*	48,97±2,05* ^Δ	48,16±3,57* ^Δ
	Sau uống 12 tuần	49,87±1,91*	48,71±3,22* ^Δ	48,02±2,99* ^Δ

*: $p > 0,05$ (So sánh với thời điểm trước uống thuốc/nước cất)^Δ: $p > 0,05$ (So sánh với lô chứng)**Bảng 4.** Ảnh hưởng của viên hoàn SNTĐĐ đến công thức bạch cầu chuột

Chỉ số	Thời gian	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2
Bạch cầu trung tính (%)	Trước uống	34,51±8,98	34,84±5,64 ^Δ	37,51±8,06 ^Δ
	Sau uống 6 tuần	34,30±7,11*	34,59±5,14* ^Δ	34,89±4,25* ^Δ
	Sau uống 12 tuần	38,49±6,35*	38,96±5,86* ^Δ	38,98±6,40* ^Δ
Bạch cầu lympho (%)	Trước uống	57,61±8,92	57,72±6,35 ^Δ	56,65±5,45 ^Δ
	Sau uống 6 tuần	56,90±8,17*	60,56±4,20* ^Δ	57,56±4,93* ^Δ
	Sau uống 12 tuần	56,02±4,81*	57,78±3,08* ^Δ	54,22±5,01* ^Δ

*: $p > 0,05$ (So sánh với thời điểm trước uống thuốc/nước cất)^Δ: $p > 0,05$ (So sánh với lô chứng)

Nhận xét: Kết quả ở các bảng 2, 3, 4 cho thấy sau 6 tuần và 12 tuần uống SNTĐĐ, các xét nghiệm đánh giá chức năng tạo máu (số lượng hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu) ở cả lô trị 1 (uống SNTĐĐ

liều 0,504/kg/ngày) và lô trị 2 (uống SNTĐĐ liều 0,504/kg/ngày) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

IV. BÀN LUẬN

4.1. Về độc tính cấp của viên hoàn Sâm nhung tán dục đơn

Chuột nhắt trắng được uống viên hoàn Sâm nhung tán dục đơn từ liều thấp nhất tăng dần đến liều 50,0g/kg/ngày nhưng không có chuột nào chết, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống thuốc lần đầu và trong suốt 7 ngày. Liều 50,0g/kg là liều tối đa có thể dùng được bằng đường uống để đánh giá độc tính cấp của thuốc thử (nồng độ đặc nhất, thể tích mỗi lần uống tối đa, số lần dùng tối đa trong 24 giờ), không xác định được LD50 của thuốc thử. So sánh với liều dự kiến trên người là 12 viên hoàn cứng/ngày/50kg (Tính người lớn trưởng thành nặng 50 kg) hay 3,6g/50kg hay 0,072g/kg: chuột đã uống đến liều cao gấp 57,87 lần (Tính hệ số ngoại suy trên chuột nhắt trắng là 12) nhưng không xuất hiện độc tính cấp. Trên thực tế không bao giờ dùng đến liều này. Như vậy Viên hoàn Sâm nhung tán dục đơn không thể hiện độc tính cấp trên động vật thực nghiệm.

4.2. Về ảnh hưởng của viên hoàn Sâm nhung tán dục đơn với một số chỉ số huyết học trên chuột cống trắng

Theo nguyên tắc ngoại suy liều của Đỗ Trung Đàm [10], nếu coi liều dùng cho người là 1 thì tỷ lệ liều tương ứng ngoại suy sang chuột cống trắng là 7. Như vậy, với liều dùng viên hoàn sâm nhung tán dục đơn trên người là 0,072g/kg cân nặng thì liều ngoại suy trên chuột sẽ là 0,504g/kg thể trọng chuột. Do đó,

trong nghiên cứu này, 2 mức liều 0,504g/kg (tương ứng với liều sẽ sử dụng trên lâm sàng) và 1,512g/kg thể trọng chuột (tương ứng với liều gấp 3 lần liều sẽ dùng trên lâm sàng) sẽ được đánh giá.

Kết quả nghiên cứu ở các bảng 2, 3, 4 cho thấy sau 6 tuần và 12 tuần uống viên hoàn sâm nhung tán dục đơn, số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, tỷ lệ các loại bạch cầu, hematocrit và hàm lượng hemoglobin không có sự biến đổi ở cả lô chứng và 2 lô trị. Như vậy viên hoàn sâm nhung tán dục đơn không làm ảnh hưởng đến chức năng tạo máu của chuột trưởng thành.

V. KẾT LUẬN

Viên hoàn Sâm nhung tán dục đơn không thể hiện độc tính cấp, không xác định được LD50 của viên hoàn Sâm nhung tán dục đơn trên chuột nhắt trắng bằng đường uống, mặc dù cho chuột uống với liều cao nhất có thể là 50,0g thuốc/1kg thể trọng chuột.

Viên hoàn Sâm nhung tán dục đơn với liều 0,504g/kg/ngày và liều 1,512g/kg/ngày, được sử dụng trong 12 tuần liên tục không gây ảnh hưởng tới chỉ số huyết học trên chuột cống trắng, không thể hiện độc tính trên cơ quan tạo máu.

VI. KIẾN NGHỊ

Cần tiếp tục nghiên cứu trên lâm sàng để đánh giá hiệu quả của viên hoàn Sâm nhung tán dục đơn trong điều trị bệnh nhân suy giảm tinh trùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Quán Anh, Nguyễn Bửu Triều (2011). Vô sinh nam giới. *Bệnh học giới tính nam*, NXB Y học, Hà Nội, 253-323.

2. Hồ Mạnh Tường (2010). “Khả năng sinh sản của nam giới”. *Tạp chí Y học sinh sản, Nội san - Hội Nội tiết và Vô sinh TP Hồ Chí Minh*, 13, 13-17.

3. WHO (1999). WHO laboratory manual for the examination of Human Semen and sperm - cervical mucus internation. Cambrige University Press, 4th Edition.

4. Nguyễn Phương Hồng (2016). “Nguyên nhân gây ra vô sinh nam giới”. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 447 (1), 71-74.

5. Nguyễn Bửu Triều, Trần Quán Anh, Trần Thị Trung Chiến và cộng sự (2005). “Bước đầu nghiên cứu nguyên nhân và đánh giá kết quả điều trị vô sinh nam giới”. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 313 (số đặc biệt), 866-930.

6. Lee H., Khourdaji I. et al (2018). Frontiers in hormone therapy for male infertility. *Translational Andrology and Urology*, 7 (3), 353–366.

7. Hải Thượng Lãn Ông (2001). *Hải Thượng Y tông tâm lĩnh*, NXB Y học, Hà Nội.

8. 阵涤平, 毛俊同 (2008). 不孕不育中西医结合诊治, 人民卫生出版社.

Trần Điều Bình, Mao Anh Đồng (2008). *Đông Tây y kết hợp chẩn trị vô sinh hiếm muộn*, NXB Y tế nhân dân.

9. Khúc Thị Song Hương (2015). *Đánh giá tác dụng của bài thuốc Tán dục đơn trong điều trị suy giảm tinh trùng thể thận dương hư*, Luận văn tốt nghiệp bác sỹ nội trú, Trường Đại học Y Hà Nội.

10. Đỗ Trung Đàm (2014), *Phương pháp xác định độc tính của thuốc*, NXB Y học, Hà Nội, 15-26.